

Research Article

Efecto del calcio sobre la toxicidad aguda de aluminio en alevines de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) expuestos en aguas de diferente pH

Rolando Vega^{1,3}, José Zamorano¹, Francisco Encina^{2,4} & Alfonso Mardones¹

¹Escuela de Ciencias de la Acuicultura, Universidad Católica de Temuco

²Escuela de Ciencias Ambientales, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco

³Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria, Universidad Católica de Temuco

⁴Núcleo de Investigación en Ciencias Ambientales, Universidad Católica de Temuco

Corresponding author: Rolando Vega (rvega@uct.cl)

RESUMEN. En la producción de alevines de salmón de la región de la Araucanía (sur de Chile) se presentan importantes eventos de mortalidad aguda sin rasgos patológicos aparentes. El problema se focaliza en ejemplares de 0,2 a 1 g y las causas apuntan a procesos de acidificación del pH del agua y a la presencia de ciertos metales pesados, entre los cuales destaca el aluminio, que alcanza concentraciones más allá de los rangos de tolerancia de los peces. La información científica indica que concentraciones de 5 mg Ca L⁻¹ en el afluente son suficientes para mantener a salvo los peces del efectos tóxico del aluminio. Sin embargo, los problemas en la producción de alevines de salmón indican que se requiere un mayor conocimiento científico y evidencia experimental que soporte el desarrollo de procesos y tecnologías para el tratamiento de los afluentes de las pisciculturas chilenas. En este trabajo se evaluó el efecto de cuatro concentraciones de calcio (0, 5, 10 y 20 mg Ca L⁻¹) sobre la toxicidad aguda de 500 µg Al L⁻¹ en alevines de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de 0,1 g en agua de cultivo a pH 5, 6 y 7. El objetivo del trabajo fue determinar la dosis de calcio que reduce la toxicidad aguda de aluminio y los tiempos mínimos de reacción que podrían disponer los piscicultores para tomar medidas preventivas ante una concentración aguda de aluminio en el agua de cultivo. Los resultados indican que antes de 8 h de exposición a una concentración tóxica de aluminio los piscicultores deberían asegurar en el agua de cultivo una dosis superior a 10 mg Ca L⁻¹ y un pH >6 como medida remedial para reducir el efecto de intoxicación aguda causada por aluminio.

Palabras clave: *Oncorhynchus mykiss*, toxicidad, aluminio, alevines, acuicultura.

Effect of calcium on acute toxicity of aluminum in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to different pH waters

ABSTRACT. Important events of acute mortality without apparent pathological features are present in the salmon smolt production in the Araucanía Region (southern Chile). The problem is focused on specimens of 0.2 to 1 g; causes points to pH acidification processes of running water and the presence of certain heavy metals, among which aluminum, reaches concentrations beyond ranges tolerated by fish. Scientific information indicates that concentrations of 5 mg Ca L⁻¹ in the affluent are enough to keep the fish safe from toxic effects of aluminum. However, problems in the production of smolt indicate that greater scientific knowledge and experimental evidence is required that supports the development of processes and technologies for effluent treatment in Chilean fish farms. In this work the effect of four calcium concentrations (0, 5, 10 and 20 mg Ca L⁻¹) on the acute toxicity of 500 mg Al L⁻¹ in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of 0.1 g was evaluated in culture water at pH 5, 6 and 7. The objective was to determine the dose of calcium that reduces the acute toxicity of aluminum and the reaction times that fish farmers could have to take preventive measures for acute aluminum concentration in the culture water. The results indicate that within 8 h of exposure to a toxic concentration of aluminum farmers should ensure a dose exceeding 10 mg Ca L⁻¹ in the culture water and pH >6 as remedial measure to reduce the effect of acute intoxication for aluminum.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, toxicity, aluminum, larvae, aquaculture.

INTRODUCCIÓN

Alrededor del 90% de las pisciculturas de la región de la Araucanía utilizan un esquema productivo de agua de flujo abierto, mientras que una cantidad inferior al 10% utiliza sistemas productivos de recirculación (Reyne, 2008). Las pisciculturas de flujo abierto se basan en el uso de agua dulce sin tratar, de diferentes orígenes: el 67% utiliza agua de ríos, el 19% agua de pozos profundos y el 38% utiliza agua de vertiente (Reyne, 2008). Estas fuentes de agua contienen metales pesados que, en concentraciones mayores a las toleradas por los peces, ponen en riesgo su estado sanitario (Reyne, 2008; Bravo, 2009).

Para el aluminio (Al) se han descrito concentraciones tóxicas en peces superiores a $10\text{-}15\ \mu\text{g L}^{-1}$ (Staurnes *et al.*, 1996; Kroglund & Finstad, 2003) cuyos efectos se caracterizan por: 1) acumulación en branquias (Kroglund *et al.*, 2001, 2005; Kroglund & Rosseland, 2004; Teien *et al.*, 2005; Cerda, 2007) aumentando la secreción de la mucosa branquial y problemas respiratorios (Muniz & Leivstad, 1980; Exley *et al.*, 1991), desbalance en la regulación de iones (Rosseland & Staurnes, 1994), disminución del crecimiento e intolerancia al agua de mar (Cerda, 2007; Atland & Bjerknes, 2009), 2) afecta las funciones celulares (Jago & Haines, 1997) interfiriendo en la diferenciación celular (Conklin *et al.*, 1992), integridad del tejido celular (Lacroix *et al.*, 1993) y producción de radicales libres, que reaccionan con los lípidos de la membrana celular, generando cambios en las condiciones de transporte de proteínas (Rohn *et al.*, 1993, 1996).

La toxicidad del aluminio y otros metales pesados, está determinada por el nivel de concentración de metal, tiempo de exposición, persistencia, vías de metabolización, susceptibilidad de los distintos tejidos (García-Gambero, 2002), la forma química en que se encuentra el metal y las condiciones físicas y químicas del ambiente acuático como el pH, temperatura, y alcalinidad del agua (Olsson, 1998). Bajo condiciones de pH ácido, los metales pesados pasan a formas iónicas que son fáciles de absorber por los peces (Gensemer & Playle, 1999; García-Gambero, 2002), aspecto que se confirma en el trabajo de Atland & Bjerknes (2009), donde se establece que en aguas de pH 4 a 5, el aluminio se encuentra principalmente como una especie monomérica cargada positivamente (Al^{3+}), tóxica para los peces. Sin embargo, también puede encontrarse ligado a complejos orgánicos, silicato o flúor, no presentando riesgo para los peces en estas combinaciones. En rangos de pH 5-6 y bajas concentraciones de complejos orgánicos, las especies de aluminio cargadas positivamente se presentan como

simples productos de la hidrólisis, como por ejemplo, hidróxido de aluminio. De igual forma en aguas de pH 6-7 el aluminio presenta una reducida solubilidad, por lo que la concentración de especies neutras no tóxicas pueden ser alta (Sánchez, 2008; Atland & Bjerknes, 2009). En aguas con valores de acidez pH >7 se ha establecido que predominan especies de aluminio cargadas negativamente como el aluminato; no presentando riesgo toxicológico para los peces (Hem & Roberson, 1967; Hem, 1968; Sposito, 1996; Gensemer & Playle, 1999), salvo si las concentraciones de calcio disuelto en el agua son $<5\ \text{mg L}^{-1}$ (Atland & Bjerknes, 2009), se causarían problemas osmoregulatorios en el smolt de salmón (Skogheim *et al.*, 1987).

La dureza del agua atribuida principalmente al calcio y en menor grado al magnesio, compiten por los mismos sitios de unión con los metales pesados sobre todo en las branquias (Noga, 2000), reduciendo la biodisponibilidad de los iones metálicos en los sitios de unión en este órgano (Linbo *et al.*, 2009). La dosis de calcio, necesaria para reducir toxicidad de aluminio en salmonideos se ha establecido en una concentración $>2,5\ \text{mg L}^{-1}$ (Rosseland, 1999). Por su parte, Atland & Bjerknes (2009) señalan que concentraciones $>5\ \text{mg L}^{-1}$ en el agua son suficientes para proteger a los peces del efecto tóxico del aluminio. Sin embargo, se ha descubierto también que las mortalidades de peces por toxicidad de metales pesados en algunos afluentes específicos de Chile, podría relacionarse a una concentración de calcio disuelto, inferior al necesario para defender a los peces del efecto tóxico de los metales pesados (Kristensen *et al.*, 2009). Por lo anterior, se hace necesario generar información científica y evidencia experimental, que soporte el desarrollo de procesos y tecnologías para el tratamiento de afluentes de pisciculturas.

Los objetivos de este trabajo fueron evaluar el tiempo de protección que brinda una concentración de $5\ \text{mg Ca L}^{-1}$ sobre la toxicidad de $500\ \mu\text{g Al L}^{-1}$ en alevines de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) expuestas a tres condiciones de acidez (pH 5, 6, y 7) y determinar la concentración de calcio necesaria para reducir la mortalidad de alevines expuestos a pH 5 en una concentración de $500\ \mu\text{g Al L}^{-1}$.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un experimento para evaluar el tiempo de protección que brinda una concentración de $5\ \text{mg L}^{-1}$ de calcio, a alevines de trucha arcoiris *O. mykiss* de 0,1 g expuestas a $500\ \mu\text{g Al L}^{-1}$ a pH 5, 6 y 7 en el agua. En un segundo experimento se evaluó la concentración de calcio necesaria para reducir el efecto tóxico de la misma concentración de aluminio en agua a pH 5.

En ambos experimentos se evaluó la expresión de la toxicidad del aluminio, registrando la mortalidad de alevines en función del tiempo de exposición a este metal (USEPA, 1994), donde el número de peces muertos obtenidos a las 96 h, se explica como expresión de la toxicidad del aluminio y como consecuencia de una baja dosis de calcio (Rosseland, 1999). Por su parte, el tiempo transcurrido antes de iniciar el registro significativo de mortalidades de las alevines en los diferentes tratamientos, se consideró como el tiempo de protección que brinda la concentración de calcio evaluada a diferentes niveles de acidez (Rosseland, 1999). Los resultados de los experimentos se presentaron en base a un gráfico de mortalidad acumulada, considerando un período de exposición al aluminio de 96 h.

Los alevines de trucha arcoiris se obtuvieron de la piscicultura Catripulli, ubicada en Curarrehue (39°23'18"S, 71°40'40"W) región de la Araucanía (sur de Chile) y fueron transportados al hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco, donde fueron aclimatados en estanques de fibra de vidrio de 100 L por 48 h previo a la experimentación. En cada tratamiento se utilizaron 25 alevines, a una densidad de 25 kg de pez m⁻³ de agua replicado 5 veces (n = 5).

El agua de cada experimento se preparó en base al estándar de composición normalizado para análisis de agua (APHA-AWWA-WPCF, 1992). Los experimentos se desarrollaron en vasos de precipitado de 1 L de capacidad, con aireación constante generada desde un aireador de baja presión Sweetwater® modelo S 11. USA y temperatura de 10°C controlada mediante un equipo de refrigeración Zanotti® modelo GM 2. Italia.

Los niveles de acidez utilizados en todos los experimentos se generaron a partir de la titulación de ácido clorhídrico Merck® (1 N) al agua de cultivo. La fuente de aluminio utilizada fue de aluminio Winklern® al 99% de pureza, la concentración utilizada (500 µg L⁻¹) corresponde a una de las mayores concentraciones de este metal registradas en las aguas del sur de Chile (Atland & Bjerknes, 2009) y la fuente de calcio utilizada fue sulfato de calcio Merck® al 99% (Tablas 1 y 2).

Análisis estadístico de los datos

El análisis de los datos se realizó con el programa estadístico GraphPad Prisma® versión 5.0 (GraphPad Software, San Diego CA). Se utilizó una ANOVA de una vía para muestras no paramétricas. Además, se realizó en paralelo el test de Kruskal-Wallis y el post-test de comparaciones múltiples Dunns, para evaluar las diferencias estadísticamente significativas entre los

grupos. El nivel de significancia se fijó en $P < 0,05$ (n = 5 réplicas).

RESULTADOS

Determinación del tiempo de protección que ofrece 5 mg L⁻¹ de calcio a alevines expuestos a 500 µg Al L⁻¹ a diferentes pH

Los resultados mostraron un 100% de sobrevivencia larval durante las 96 h de evaluación en el control a pH 7, sin adición de calcio y aluminio, al igual que cuando se mantiene este pH y se adiciona 500 µg Al L⁻¹ (T6) o además del aluminio, 5 mg Ca L⁻¹ (T3). En pH 6 y 7 la dosis de calcio ofrece un tiempo de protección que se extiende durante las 96 h del experimento. Sin embargo, la concentración de 5 mg L⁻¹ de calcio a pH 5 no es suficiente para proteger a las alevines del efecto tóxico de 500 µg Al L⁻¹, ya que los efectos se comienzan a observar a partir de las 8 h de exposición (Fig. 1). En agua sin calcio a pH 6 y 5 las mortalidades de los alevines (T5: 62 ± 4,6% y T4: 77 ± 6,8%) mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$). En agua con pH 6 en presencia de 5 mg Ca L⁻¹ se obtuvo una mortalidad (T2: 2 ± 0%), significativamente menor ($P < 0,05$) en comparación con el 62 ± 4,6% que se obtuvo en ausencia de calcio (T5), lo cual indica que la protección se reduce a 24 h. A pH 5 se observó una mortalidad aguda del 100% de las alevines a las 36 y 48 h de exposición sin calcio (T4) o con 5 mg Ca L⁻¹ (T1).

Determinación del tiempo de protección que ofrecen diferentes concentraciones de calcio a alevines expuestos a 500 µg Al L⁻¹ a pH 5

Las aguas con 500 µg Al L⁻¹ a pH 5 con 10 (T9) y 20 (T10) mg Ca L⁻¹, igual que el control, no presentaron mortalidades durante las 96 h de exposición. Sin embargo, mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a los tratamientos que consideraron una menor concentración de calcio: 0 (T7) y 5 (T8) mg Ca L⁻¹ donde la mortalidad acumulada fue del 100% de los alevines a las 24 h de exposición (Fig. 2).

DISCUSIÓN

Si bien antes de 12 h de exposición al aluminio, los porcentajes de mortalidad de los alevines no son estadísticamente significativos, desde el punto de vista productivo los porcentajes de mortalidad en este período representan una importante pérdida económica para la larvicultura de la trucha, sobrepasando los niveles de mortalidad esperados del 5% para el período ova con ojo a primera alimentación (Bromage & Cumarantunga, 1988).

Tabla 1. Concentraciones de calcio y niveles de pH en los tratamientos diseñados para determinar el tiempo de protección que brinda 5 mg Ca L⁻¹, a alevines de trucha arcoiris expuestas a una concentración de 500 µg Al L⁻¹.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Control
pH	5	6	7	5	6	7	7
Ca mg L ⁻¹	5	5	5	0	0	0	0
Al µg L ⁻¹	500	500	500	500	500	500	0

Tabla 2. Concentraciones de calcio evaluadas para determinar la dosis que reduce el efecto tóxico de 500 µg L⁻¹ en alevines de trucha arcoiris expuestas a pH 5.

	T 7	T 8	T 9	T 10	Control
Ca mg L ⁻¹	0	5	10	20	0
Al µg L ⁻¹	500	500	500	500	0

Las mortalidades se observaron principalmente en los tratamientos de pH 5 debido a que en pH ácidos el aluminio está presente como especies cargadas positivamente de alta toxicidad (Teien *et al.*, 2006; Sánchez, 2008), acelerando su precipitación sobre la superficie de la branquia de los alevines, afectando la respiración y regulación de iones (Rosseland & Staurnes, 1994), produciendo irritación y aumento de secreción de mucus y la muerte de alevines (Atland & Bjerknes, 2009). La inclusión de 5 mg Ca L⁻¹ en este pH, no redujo la toxicidad. Estos resultados son similares a los obtenidos por Wilson *et al.* (1994) que indican que el salmón expuesto a pH entre 4,7 y 5,5 en aguas con aluminio mueren primariamente debido a la presencia de aluminio, más que por la concentración de H⁺. Por otra parte, Poleo (1997) señala que el agua a pH 5 no es tóxica para los peces, comparada con aguas ricas en aluminio al mismo pH, esto debido a que en este nivel de acidez, el aluminio se encuentra como especie reactiva, cargada positivamente de alta toxicidad (Teien *et al.*, 2004).

A pH 7 la ausencia de mortalidad se explica debido a que en aguas de acidez neutra, el aluminio está presente como especie cargada negativamente de baja toxicidad (Teien *et al.*, 2004, 2006), disminuyendo la concentración de iones libres, generando una reducción en la proporción del metal total en forma catiónica (Sánchez, 2008), presentándose mayormente como aluminato cargado negativamente de baja reactividad y peligro para los peces. Hirt & Domitrovic (2002), manifiestan que a valores altos de pH en el agua, el aluminio precipita como hidróxido, que puede flocular en el agua, disminuyendo su toxicidad.

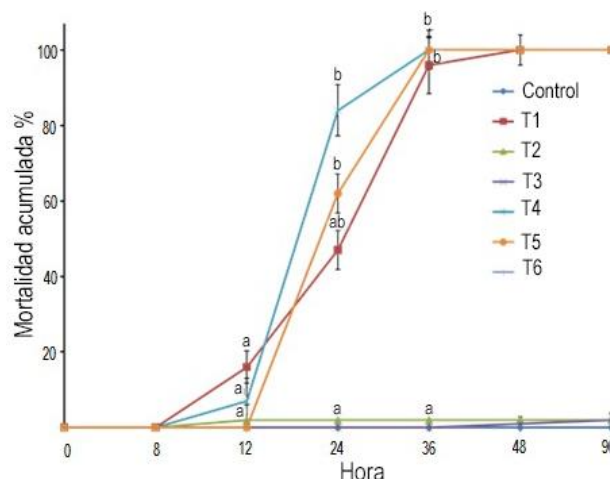


Figura 1. Porcentaje de mortalidad acumulada en peces durante 96 h sometidos a diferentes tratamientos. Los datos representados son promedios acumulados \pm DE (n = 5). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en relación al control y entre los tratamientos ($P < 0,05$).

Por su parte, a pH 6 (T2) el aporte de 5 mg Ca L⁻¹, redujo la toxicidad del aluminio impidiendo su unión a los sitios cargados negativamente en el epitelio branquial, generando un efecto protector sobre los alevines (Allin & Wilson, 1999). Este efecto protector estaría determinado por la formación de nuevos complejos de aluminio de mayor peso molecular y menor toxicidad. Esto lo confirman Roy & Campbell (1997), quienes trabajando en agua blanda y pH 5 obtuvieron una reducción de la toxicidad del aluminio por polimerización del metal. Estudios de especiación química y ultrafiltración demostraron que la transformación de moléculas de aluminio de bajo peso molecular (<10 Kd) en moléculas de mayor peso (>10 Kd) pueden estar relacionadas con la menor respuesta tóxica del aluminio en los peces, impidiendo su unión a los sitios cargados negativamente de la superficie branquial (Whitters *et al.*, 1996).

En los tratamientos con 10 mg Ca L⁻¹ (T9 y T10, Fig. 2) no se registraron mortalidades de alevines, debido a que la concentración los protegió del efecto

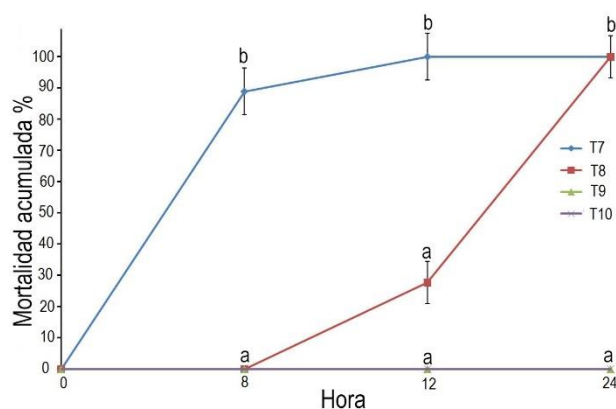


Figura 2. Porcentaje de mortalidad acumulada en peces durante 24 h sometidos a diferentes tratamientos a pH 5. Los datos presentados son promedios acumulados \pm DE ($n = 5$). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$).

tóxico del aluminio. Sin embargo, la concentración de 5 mg Ca L^{-1} (T7 y T8) no sería suficiente para protegerlos frente a la concentración de $500 \mu\text{g Al L}^{-1}$. Estos resultados confirman lo expuesto por Linbo *et al.* (2009) y García-Gamero (2002), en el sentido que la toxicidad aguda del aluminio decrece en los peces hasta desaparecer con el incremento de la dureza del agua, debido a que se genera un efecto protector en los peces contra la pérdida de iones desde la membrana branquial (Atland & Bjerknes, 2009).

En consecuencia, la dosis de calcio que presentó la mayor protección es superior a la recomendada por Rosseland (1999) lo que se atribuiría a que utilizó peces de tamaño smolt, mientras que en este trabajo se utilizaron alevines recién eclosionados de 0,1 g de peso, que son más vulnerables al efecto tóxico del aluminio. Al respecto Sloman *et al.* (2002) y Lamas *et al.* (2007) sostienen que los peces en sus primeros estadios de vida son muy sensibles a los efectos tóxicos de los metales pesados, debido a que poseen una mayor tasa metabólica, con lo que captan una mayor cantidad de metales por unidad de volumen.

CONCLUSIONES

Se observó que la concentración de 5 mg Ca L^{-1} ofrece un tiempo de protección de hasta 8, 24 y 96 h a alevines de trucha arcoiris expuestos a una concentración aguda de $500 \mu\text{g Al L}^{-1}$ en aguas de pH 5, 6 y 7. La concentración de 10 mg Ca L^{-1} sería suficiente para proteger a alevines de trucha arcoiris expuestos a una concentración aguda de $500 \mu\text{g Al L}^{-1}$ en aguas de pH 5 y 6.

REFERENCIAS

- APHA-AWWA-WPCF. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potable y residual. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, 1714 pp.
- Atland, A. & V. Bjerknes. 2009. Calidad de agua para el cultivo de smolts en Chile. Norwegian Institute for Water Research (NIVA) Chile S.A., 139 pp.
- Allin, C.J. & R.W. Wilson. 1999. Behavioural and metabolic effect of chronic exposure to sublethal aluminum in acidic soft water in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 56: 670-678.
- Bravo, S. 2009. Enfermedades del desarrollo. Salmón-acuícola versión diferente, 6(10): 11-14.
- Bromage, N. & R. Cumarantunga. 1988. Egg production in the rainbow. In: J.F. Muir & R.J. Roberts (eds.). Recent advances in aquaculture. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 23: 64-138.
- Cerda, P. 2007. Descripción histopatológica de un cuadro clínico asociado posiblemente a una intoxicación por metales pesados en alevines de *Salmo salar*. Licenciado en Ciencias Veterinarias, Universidad Católica de Temuco, Temuco, 61 pp.
- Conklin, D.J., R.C. Mowbray & W.H. Gingerich. 1992. Effects of chronic exposure to soft, acidic water on gill development and chloride cell numbers in embryolarval brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Aquat. Toxicol.*, 22: 39-52.
- Exley, C., J.K. Pinnegar & H. Taylor. 1997. Hydroxyaluminosilicates and acute aluminium toxicity in fish. *J. Theor. Biol.*, 183: 133-139.
- García-Gamero, J.P. 2002. Estado actual de la contaminación por metales pesados y pesticidas organoclorados en el Parque Nacional de Monfrague. Tesis Doctoral de Medicina Veterinaria, Universidad de Extremadura, España, 334 pp.
- Gensemer, R.W. & R.C. Playle. 1999. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments, critical reviews in environ. Sci. Technol., 29(4): 315-450.
- Hem, J.D. 1968. Graphical methods for studies of aqueous aluminium hydroxide, fluoride and sulfate complexes. U.S. Geological Survey Water-Supply, Paper 1827: 33 pp.
- Hem, J.D. & C.E. Roberson. 1967. Form and stability of aluminium hydroxide complexes in dilute solution. U.S. Geological Survey Water-Supply, Paper 1827: 55 pp.
- Hirt, L.M. & H.A. Domitrovic. 2002. Toxicity and histopathological response in *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) exposes to cadmium chloride in acute sublethal test. *Rev. Ictiol.*, 10(1-2): 17-32.

- Jago, C.H. & T.A. Haines. 1997. Changes in gill morphology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts due to addition of acid and aluminium to stream waters. *Environ. Pollut.*, 1-2: 137-146.
- Kristensen, T., A. Atland, T. Rosten, H.A. Urke & B.O. Rosseland. 2009. Important influent-water quality parameters at freshwater production sites in two salmon producing countries. *Aquacult. Eng.*, 41: 53-59.
- Kroglund, F. & B. Finstad. 2003. Low concentrations of inorganic monomeric aluminium impair physiological status and marine survival of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 222: 119-133.
- Kroglund, F. & B.O. Rosseland. 2004. Effekter av episode på parr og smoltkvalitet til laks. NIVA Rapport 4797: 45 pp.
- Kroglund, F., E. Kleiven & K.J. Aanes. 2005. Vurdering av årsak til fiskedød Kleivsbekken, Kvinesdal Kommune. NIVA Rapport 5083: 32 pp.
- Kroglund, F., H.C. Teien, B.O. Rosseland, B. Salbu & Lucassen. 2001. Water quality dependent recovery from aluminum stress in Atlantic salmon smolts. *Water Air Soil Pollut.*, 130: 911-916.
- Lacroix, G.L., R.H. Peterson, C.S. Belfry & D.J. Martin-Robichaud. 1993. Aluminum dynamics on gills of Atlantic salmon fry in the presence of citrate and effects on integrity of gill structures. *Aquat. Toxicol.*, 27(3-4): 373-402.
- Lamas, S., J. Fernández, J. Aboal & A. Carballeira. 2007. Testing the use of juvenile (*Salmo trutta* L) as biomonitors of heavy metal pollution in freshwater. *Chemosphere*, 67: 221-228.
- Linbo, T., D. Baldwin, J. McIntyre & L. Scholz. 2009. Effects of water hardness, alkalinity and dissolved organic carbon on the toxicity of copper to lateral line of developing fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, 28(7): 1455-1461.
- Muniz, I.P. & H. Leivstad. 1980. Acidification effects on freshwater fish. In: D. Drablos & A. Tollan (eds.). *Ecological impact of acid precipitation. Proceedings of an International Conference, Sandfjord, Norway, March 11-14, 1980, Oslo, Norway, SNSF Project*, pp. 84-92.
- Noga, E.J. 2000. *Fish disease. Diagnosis and treatment*. Iowa State University Press, Blackwell Publishing, Iowa, 375 pp.
- Olsson, P.E. 1998. Disorders associated with heavy metal pollution. In: J.F. Leatherland & P.T.K. Woo (eds.). *Fish disease and disorders. Vol 2*. Cabi. U.K., 386 pp.
- Poleo, A. 1997. Aluminium polymerization. A mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquat. Toxicol.*, 31(4): 347-356.
- Reyne, O. 2008. La industria piscícola en la Región de La Araucanía: diagnóstico, problemáticas y perspectivas para su desarrollo. Grado de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, Temuco, 105 pp.
- Rohn, T., T.R. Hins & F.F. Vincenzi. 1993. Ion transport ATPases as targets for free radical damage: protection by and aminosteroid of the Ca⁺ pump ATPases and Na⁺/K⁺ pump ATPases of human red blood cell membranes. *Biochem. Pharmacol.*, 46: 525-534.
- Rohn, T., T.R. Hins & F.F. Vincenzi. 1996. Inhibition of Ca⁺- pump ATPases and Na⁺/K⁺- pump ATPases by iron generated free radicals. *Biochem. Pharmacol.*, 51: 525-534.
- Rosseland, B.O. 1999. Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. In: T. Poppe (ed.). *Fiskehelse og fiske sykdommer*, side 240-252. Universitetsforlaget AS, ISBN 82-00-12718-4.
- Rosseland, B.O. & M. Staurnes. 1994. Physiological mechanisms for toxic effects and resistance to acidic water: an ecophysiological and ecotoxicological approach. In: C.E.W. Steinberg & R.F. Wright (eds.). *Acidification of freshwater ecosystems: implications for the future*. John Wiley & Sons, New York, pp. 227-246.
- Roy, R. & P. Campbell. 1997. Decreased toxicity of aluminium to juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) in acidic soft water containing natural organic matter: a test of the free-ion model. *Environm. Toxicol. Chem.*, 16(9): 1962-1969.
- Sánchez, E.Y. 2008. Lagunas profesan el heavy metal. Metales pesados en ambientes acuáticos pampeanos. In: F. Grosman (comp.). *En espejos de la llanura: nuestras lagunas de la región Pampeana*. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires, pp. 91-99.
- Skogheim, O.K., B.O. Rosseland, F. Kroglund & G. Hagenlund. 1987. Addition of NaOH, limestone slurry and finegrained limestone to acidic lake water and the effects on smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Water Res.*, 21: 435-443.
- Sloman, K., D. Baker, C. Wood & G. McDonald. 2002. Social interactions affect physiological consequences of sub lethal copper exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 21(6): 1255-1263.
- Sposito, G. 1996. *The environmental chemistry of aluminium*. Lewis Publishers, Florida, 31 pp.
- Staurnes, M., L.P. Hansen, K. Fugelli & Ø. Haraldstad. 1996. Short-term exposure to acid water impairs osmoregulation, seawater tolerance, and subsequent marine survival of smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1695-1704.
- Teien, H., W. Standring & B. Salbu. 2006. Mobilization of river transported colloidal aluminium upon mixing

- with seawater and subsequent deposition in fish gills. *Sci. Total Environ.*, 364: 149-164.
- Teien, H.C., B. Salbu, L. Sorlie-Heier, F. Kroglund & B.O. Rosseland. 2005. Fish mortality during sea salt episodes-catchment liming as countermeasure. *J. Environ. Monitor.*, 7: 989-998.
- Teien, H.C., B. Salbu, F. Kroglund & B. Olav. 2004. Transformation of positive charged aluminium species in unstable mixing zones following liming. *Sci. Total Environ.*, 330: 217-232.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). 1994. Catalogue of standard toxicity test for ecological risk assessment. Intermittent Bulletin Office of Emergency Remedial Response, 2(2): 4 pp.
- Wilson, R., H. Bergman & C. Wood. 1994. Metabolic costs and physiological consequences of acclimation to aluminum in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): acclimation specificity, resting physiology, feeding, and growth. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51: 527-535.
- Witters, H., S. Van Puymbroeck, A. Stouthart & S. Wendelaar-Bonga. 1996. Physicochemical changes of aluminium in mixing zones: mortality and physiological disturbances in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Environ. Toxicol. Chem.*, 1(6): 986-996.

Received: 12 July 2013; Accepted: 10 January 2015